



Normal ve osteoporotik sıçan femurunda kemiğin biyomekanik kalitesinin biyomekanik testle ve sonlu elemanlar analizi ile belirlenmesi

Determining the biomechanical quality of normal and osteoporotic bones in rat femora through biomechanical test and finite element analysis

Ülkü ÇÖMELEKOĞLU,¹ Hüseyin MUTLU,² Serap YALIN,³ Selda BAĞIŞ,⁴ Altan YILDIZ,⁵ Oya ÖGENLER¹

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Biyofizik Anabilim Dalı, ⁵Radyodiagnostik Anabilim Dalı;

²Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Makina Mühendisliği Bölümü; ³Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı; ⁴Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı

Amaç: Bu çalışmada, normal ve osteoporotik sıçan kortikal femurunun biyomekanik özellikleri hem deneysel biyomekanik analiz hem de sonlu elemanlar analizi (SEA) ile değerlendirildi.

Çalışma Planı: Ağırlıkları 225-250 gram arasında değişen 14 adet genç erişkin Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan eşit sayıda iki gruba ayrıldı. Bir gruba ketamin anestezisi altında iki taraflı ovariektomi yapıldı. Ovariektomiden 14 hafta sonra, çift enerjili X ışınları absorpsiyometrisi ile tüm sıçanlarda kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçüldü; daha sonra yüksek dozda ketamin ile deneklerin yaşamı sonlandırılarak sağ ve sol femurları çıkarıldı. Sol femurlara biyomekanik germe testi uygulandı. Sağ femurlarda ise kortikal kemik kesiti bilgisayarlı tomografi ile görüntüldü, bilgisayara aktarılan görüntülerden kemiklerin üçboyutlu modelleri elde edildi. ANSYS 9.0 paket programı kullanılarak SEA yapıldı. Her iki yöntemle elde edilen kemiklerin deformasyon, stres ve strain dağılımları karşılaştırıldı.

Sonuçlar: Ovariektomi grubunda KMY değerinin kontrol grubuna göre yaklaşık %29 oranında azaldığı görüldü ($p<0.05$). Ayrıca, biyomekanik testte deformasyon %39, stres %51 ve gerilme %64 düşüş gösterdi ($p<0.05$). Deneysel biyomekanik analiz ile SEA analizi sonuçları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Çıkarımlar: Elde edilen sonuçlar ışığında, klinik uygulamada osteoporotik hastalarda SEA ile kemiğin biyomekanik kalitesinin *in vivo* olarak belirlenebileceği düşünüldü.

Anahtar sözcükler: Biyomekanik; kemik yoğunluğu; femur/anatomi ve histoloji; sonlu elemanlar analizi; osteoporoz; ovariektomi; stres, mekanik; sıçan.

Objectives: This study aimed to determine the biomechanical quality of cortical bone in normal and osteoporotic rat femora with the use of biomechanical analysis and finite element analysis.

Methods: Fourteen young adult female Sprague-Dawley rats weighing 225-250 g were randomized into two groups equal in number. One group underwent bilateral ovariectomy under ketamine anesthesia. Fourteen weeks after ovariectomy, bone mineral density was measured by dual energy X-ray absorptiometry in two groups and the rats were sacrificed under high-dose ketamine anesthesia for removal of all the femora. The right femora were subjected to biomechanical tension tests. In the left femora, cortical bone sections were visualized by computed tomography and finite element analysis was performed on computer-generated three dimensional images using the ANSYS 9.0 software. Deformation, stress, and strain values obtained by the two analyses were compared.

Results: Compared to the control group, bone mineral density decreased by 29%, and decreases in deformation, stress, and strain values were 39%, 51%, and 64%, respectively, in the ovariectomized rats ($p<0.05$). No significant differences were found between the results of biomechanical measurements and finite element analysis ($p>0.05$).

Conclusion: Our data suggest that finite element analysis can be used *in vivo* to determine biomechanical quality of the bone in osteoporotic patients.

Key words: Biomechanics; bone density; femur/anatomy & histology; finite element analysis; osteoporosis; ovariectomy; stress, mechanical; rats.

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi ve kemik dokusunun yapısal bozulması, buna bağlı olarak kemiğin dayanıklılığının azalması sonucunda kırıklara eğilimin artmasıyla karakterize bir hastalıktır.^[1,2]

Günümüzde osteoporotik kırıklar, morbitidesi, mortalitesi ve maliyeti açısından 30 yaş üstü, özellikle de menopoza sonrası kadınlarda görülen en önemli sağlık sorunlarından biridir. Osteoporoz tanısında kemik mineral yoğunluğu ölçümünün önemli yeri bulunmasına rağmen, kemik kalitesinin saptanmasının kemik mineral yoğunluğunun saptanmasından daha önemli olduğu bildirilmiştir.^[3] Kemik kalitesi kavramı kemiğin materyal özellikleri ve geometrik özelliklerini içerir. Kemiğin materyal özellikleri intrinsek özelliklerdir ve bu özellikler kemiğin dayanıklılığını belirler.^[4] Kemiğin materyal özellikleri biyomekanik testlerle belirlenebilir^[5] ve bu testler laboratuvar koşullarında uygulanır. Kemiklere gerilme, sıkıştırma, döndürme, bükülme kuvvetleri oluşturan mekanik yüklenmeler verilerek gücü ve dayanıklılığı değerlendirilir.

Osteoporoz tedavisi oldukça pahalı bir tedavidir ve günümüzde bu tedavinin başarılı olup olmadığının değerlendirilmesinde en çok kullanılan ölçüt kemik mineral yoğunluğudur. Ancak, kemik mineral yoğunluğunun artmış olması, kemik kırılabilirliğinin azaldığını göstermek için yeterli değildir. Bazı koşullarda mineralizasyondaki artış kemik kırılabilirliğinde artışla da sonuçlanabilir.^[4] Bu nedenle, kemiğin biyomekanik kalitesinin saptanması tedavinin yararlı olup olmadığının belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Deneysel olarak biyomekanik değişkenlerin ölçülmesi için kemik örneklerine gereksinim vardır. Ancak, tedavi sürecinde insandan kemik örnekleri sağlamak olası değildir. Bilgisayar teknolojisinin gelişimiyle birlikte özellikle mühendislik alanında yaygın olarak kullanılmaya başlanan sonlu elemanlar analizi (SEA) ile kemik örnekleri olmadan da kemiğin biyomekanik özellikleri belirlenebilmekte, stres ve gerilme dağılımları ölçülebilmekte ve kemik çok küçük parçalar halinde modellenerek^[6] bu değişkenlerin kritik değerlere ulaştığı noktalar gözlenebilmektedir.

Bu çalışmada, normal ve osteoporotik sıçan kortikal femurunun biyomekanik özelliklerinin hem deneysel biyomekanik analiz hem de sonlu elemanlar analizi kullanılarak saptanması ve elde edilen sonuçların karşılaştırılması amaçlandı. Deneysel osteopo-

roz oluşturmak için ovariektomize sıçan modeli kullanıldı.

Gereç ve yöntem

Deneysel biyomekanik

Deneysel olarak, ağırlıkları 225-250 gram arasında değişen 14 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar deney süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda, oda sıcaklığı 21 °C ve ortalama nem yaklaşık %50 olacak şekilde galvaniz kafeslerde tutuldu, deney süresince standart sıçan yemi ile beslendi, su gereksinimleri *ad libitum* olarak karşılandı. Sıçanlar, her grupta yedi adet olacak şekilde kontrol ve ovariektomi (OV) gruplarına ayrıldı. Daha sonra OV grubundaki sıçanlara, ketamin ile (Ketalar, Eczacıbaşı İlaç Sanayi, Türkiye) anestezi sonrası ventral insizyonla iki taraflı ovariektomi yapıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara herhangi bir uygulama yapılmadı. Sıçanlara tüm işlemler Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulunun onayı alındıktan sonra uygulandı.

Ovariektomiden 14 hafta sonra küçük hayvan problu çift enerjili X ışınları absorpsiyometrisi (DEXA; Norland 45 XR) ile sıçanların kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçüldü; daha sonra yüksek dozda ketamin uygulanarak deneklerin yaşamları sonlandırıldı. Sıçanların sağ ve sol femurları çıkarıldı. Sol femurlar biyomekanik analiz için, sağ femurlar ise kortikal kemik kesitinin görüntülenmesi için ayrıldı. Biyomekanik analiz için ayrılan kemikler mekanik test yapılıncaya kadar -20 °C'de bekletildi.

Biyomekanik ölçümler kortikal femurda yapıldı. Dondurulmuş olarak saklanan femurlar oda sıcaklığına getirildikten sonra biyomekanik cihazına yatay olarak yerleştirildi ve uçları akrilik ile tespit edildi. Daha sonra femurlara BIOPAC MP 100 sistemiyle uyumlu biyomekanik cihazı (MAY 03, ABD) ile çekme testi uygulandı. Kuvvet verileri 16 bitlik analog/sayısal çevirici ile saniyede 1000 örnek alınarak bilgisayara aktarıldı ve daha sonra analiz etmek üzere bilgisayara kaydedildi. Modülün çekme hızı 2 mm/dakika, uyguladığı kuvvet ise 5 g/s olarak ayarlandı. Bilgisayardaki veriler BIOPAC MP 100 Acquisition System Version 3.5.7 (Santa Barbara, ABD) kullanılarak analiz edildi. Bu verilerden yük-deformasyon eğrileri elde edildi. Yük-deformasyon eğrileri normalize edilerek stres-strain eğrisine dönüştürüldü. Yük-yer değiştirme eğrisinden maksimum kırılma kuvveti ve deformasyon, stres-strain eğrisinden ise stres ve strain hesaplandı. Kırılma

Tablo 1. Normal ve osteoporotik sıçan kortikal femurlarında biyomekanik değişkenler

Değişkenler	Normal sıçan femuru		Osteoporotik sıçan femuru	
	Deneysel biyomekanik	Sonlu elemanlar analizi	Deneysel biyomekanik	Sonlu elemanlar analizi
Deformasyon (mm)	0.21±0.019	0.19±0.022	0.13±0.043	0.09±0.057
Stres (MPa)	39.46±5.68	41.3±7.96	19.40±3.96	21.77±3.46
Gerilme	0.13±0.05	0.11±0.033	0.048±0.0013	0.049±0.0021

kuvveti (N) kemiğin kırıldığı andaki kuvvete, deformasyon uygulanan kuvvete karşı kemikte oluşan uzama miktarına (mm) karşılık gelmektedir. Maksimum stres kemik kırılmadan önceki stresi tanımlamaktadır. Maksimum stres şu bağıntıdan hesaplandı: $\sigma = F/A$. Bu bağıntıda (s) maksimum strese, (F) kemiğin kırıldığı andaki kuvvete, (A) ise kortikal kemiğin kesit alanına karşılık gelmektedir.^[7]

Maksimum strain ise, $\epsilon = \Delta L/L_0$ bağıntısından hesaplandı. Burada (ϵ) maksimum straine, ΔL kemiğin boyunda meydana gelen değişikliğe (deformasyon), L_0 ise kemiğin başlangıçtaki boyuna karşılık gelmektedir.^[7]

Teorik hesaplama – Sonlu elemanlar analizi

Kontrol ve OV gruplarına ait sağ femurların bilgisayarlı tomografi (ARSTAR 40, Erlangen, Almanya) ile 1 mm'lik enine kesit görüntüleri elde edildi. Bu görüntüler bir tarayıcıdan geçirilerek bilgisayarda AUTOCAD programına aktarıldı ve kenar tanımlamaları bu program ile yapıldı. Aynı program ile kortikal kemik kesit alanı hesaplandı. Daha sonra katı model programı yardımıyla (SOLID WORKS) kesitlerden kortikal kemiklerin üçboyutlu modeli elde edildi. Sonlu elemanlar analizi ANSYS 9.0 bilgisayar program paketi kullanılarak yapıldı. Bu analiz için kemiğin lineer elastik ve izotropik olduğu varsayıldı ve elastik modül 0.5 GPa, Poisson oranı ise 0.3 olarak alındı. Modellemede eleman tipi olarak 4-düğüm noktalı dörtgen eleman kullanıldı. Deneysel yöntemde ve sonlu elemanlar analizinde uygulanan kuvvet değeri ve yönü için aynı protokol kullanıldı.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 10.0 yazılımı kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi ve istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alındı. Kolmogorov-Smirnov testi ile verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları test edildikten sonra istatistiksel analiz Student t-testi ile yapıldı.

Sonuçlar

Kontrol grubunda KMY değeri ortalama 0.14 ± 0.32 g/cm², OV grubunda ise 0.10 ± 0.037 g/cm² bulundu. Ovariectomi grubunda KMY değeri kontrol grubuna göre yaklaşık %29 oranında azalmıştı ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Benzer şekilde, OV grubunda deformasyon %39, stres %51 ve gerilme %64 oranında azalmıştı ve bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Bu bulgular, ovariectomiden 14 hafta sonra OV grubunda osteoporoz geliştiğinin göstergesi olarak kabul edildi.

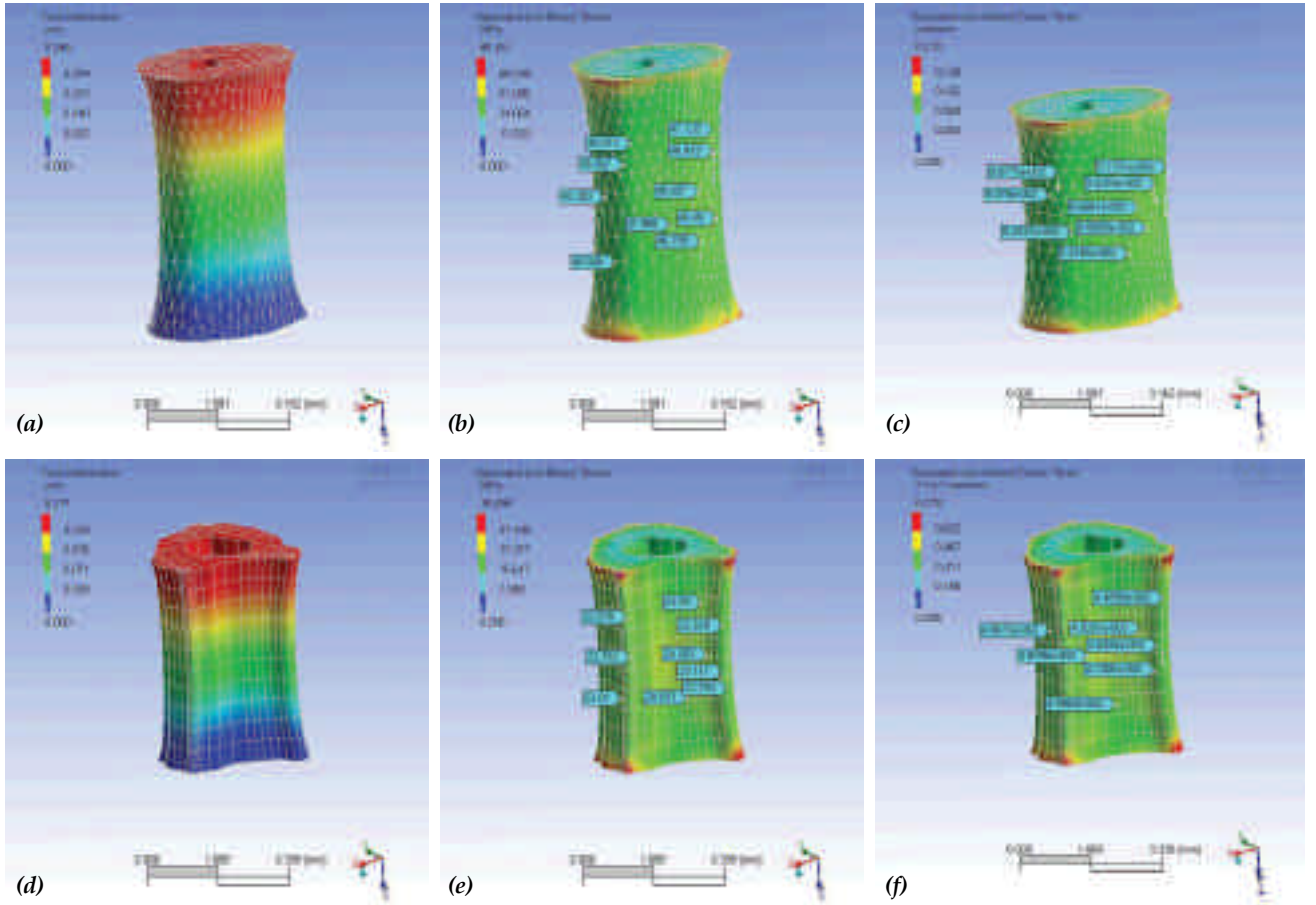
Normal ve osteoporotik kemiklere ait deneysel biyomekanik ve SEA sonuçları Tablo 1'de özetlendi. Normal ve osteoporotik kemikler için SEA kullanılarak elde edilen deformasyon, stres ve gerilme dağılımları Şekil 1'de gösterildi. İstatistiksel analiz sonucunda deneysel biyomekanik analiz ile SEA analizi sonuçları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tartışma

Bu çalışmada normal ve deneysel osteoporoz oluşturulmuş sıçanlarda kortikal femurun kalitesi hem deneysel biyomekanik analiz hem de SEA yöntemi kullanılarak araştırılmış ve her iki yöntemle elde edilen deformasyon, stres ve gerilme dağılımlarına ait sonuçların hem normal kemiklerde hem de osteoporotik kemiklerde uyum gösterdiği gözlenmiştir.

Sonlu elemanlar analizi, kemik çalışmalarında ilk kez 1972 yılında Brekelmans tarafından kullanılmıştır. Brekelmans fizyolojik olarak yüklenen insan kemiğinin stres dağılımlarını incelemiştir.^[8] Daha sonra bu yöntem ortopedik implantların biyomekanik özelliklerini tanımlamak için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.^[9-12]

Osteoporotik kırıkların önlenmesinde ve tedavi sürecinin değerlendirilmesinde KMY'den çok, kemiğin biyomekanik özelliklerinin belirlenmesinin



Şekil 1. (a-c) Normal ve osteoporotik (d-f) sıçan femurunda sırasıyla deformasyon, stres ve gerilme dağılımı.

önemli olduğu bildirilmektedir. Klinik uygulamada osteoporotik hastalarda kemiğin biyomekanik kalitesinin saptanmasında SEA kolay uygulanabilir bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak, uygulamada sonuçların doğruluğunu etkileyebilecek bazı parametrelerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu parametrelerden biri, incelenecek kemiğin üçboyutlu yapısının gerçeğe en yakın olacak biçimde oluşturulmasıdır. Çalışmamızda bilgisayarlı tomografi ile elde ettiğimiz enine kesit görüntülerini bir katı model programına aktararak kortikal kemiklerin üçboyutlu modellerini elde ettik ve bu modelleri SEA’da kullandık. Daha önce bu konuda yapılmış çalışmalara^[9-12] dayanarak, SEA’yı uygularken aslında heterojen ve anizotropik olan kemiğin materyal özelliklerinin homojen ve izotropik olduğunu varsaydık. Bu varsayım, analizi basitleştirmek için kullanılmaktadır.^[13] Deneysel verilerimiz ile SEA’dan elde ettiğimiz veriler arasında anlamlı fark bulamadık. Ancak, son yıllarda oldukça hızla gelişen, daha yüksek çözünürlüğe sahip ve mikroyapı hakkında da bilgi veren görüntüleme yöntemleriyle gerçeğe daha

yakın model oluşturma olasılığı artmıştır. Bu da osteoporotik hastalarda SEA’yı kullanarak kemiğin biyomekanik kalitesinin daha büyük doğrulukla saptanmasına olanak sağlayacaktır. Göz önünde bulundurulması gereken bir diğer parametre, analiz yapılırken kemiğin materyal özellikleri ile ilgili bilgilerin doğru olarak tanımlanmasıdır. Bu açıdan elastik modül ve Poisson oranı önemlidir. Ayrıca, uygulanacak kuvvet ve kuvvetin yönünün de doğru tanımlanması gerekir.

Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar, SEA kullanarak kemiğin biyomekanik kalitesinin *in vivo* olarak saptanabileceğini düşündürmektedir. Bu yöntemin klinikte, özellikle de osteoporotik hastalarda kemik kırılma riskinin saptanmasında ve tedavi sürecinin değerlendirilmesinde kullanılması için çalışmalar sürdürülmektedir.

Kaynaklar

1. Dequeker J, Mundy GR. Bone structure and function. In: Klippel J, Dieppe PA, editors. Rheumatology. London: Mosby; 1998. p. 8-34.
2. Han SM, Szarzanowicz TE, Ziv I. Effect of ovariectomy and

- calcium deficiency on the ultrasound velocity, mineral density and strength in the rat femur. *Clin Biomech* 1998;13:480-4.
3. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 2001;285:785-95.
 4. Burr DB. The contribution of the organic matrix to bone's material properties. *Bone* 2002;31:8-11.
 5. Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone* 1993;14:595-608.
 6. Zhong ZC, Wei SH, Wang JP, Feng CK, Chen CS, Yu CH. Finite element analysis of the lumbar spine with a new cage using a topology optimization method. *Med Eng Phys* 2006;28:90-8.
 7. Nigg BM, Herzog W, editors. *Biological materials*. In: *Biomechanics of the musculo-skeletal system*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons; 1999. p. 50-63.
 8. Viceconti M, Davinelli M, Taddei F, Cappello A. Automatic generation of accurate subject-specific bone finite element models to be used in clinical studies. *J Biomech* 2004;37:1597-605.
 9. Lengersfeld M, Burchard R, Gunther D, Pressel T, Schmitt J, Leppek R, et al. Femoral strain changes after total hip arthroplasty-patient-specific finite element analyses 12 years after operation. *Med Eng Phys* 2005;27:649-54.
 10. Swider P, Pedrono A, Mouzin O, Soballe K, Bechtold JE. Biomechanical analysis of the shear behaviour adjacent to an axially loaded implant. *J Biomech* 2006;39:1873-82.
 11. Jia X, Zhang M, Li X, Lee WC. A quasi-dynamic nonlinear finite element model to investigate prosthetic interface stresses during walking for trans-tibial amputees. *Clin Biomech* 2005;20:630-5.
 12. Au AG, Liggins AB, Raso VJ, Amirfazli A. A parametric analysis of fixation post shape in tibial knee prostheses. *Med Eng Phys* 2005;27:123-34.
 13. Dumont ER, Piccirillo J, Grosse IR. Finite-element analysis of biting behavior and bone stress in the facial skeletons of bats. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2005;283:319-30.